

SYNTHESIS OF OLIGOSACCHARIDES

Publication number: AU1039783

Publication date: 1983-07-21

Inventor: PETITOU MAURICE; JACQUINET JEAN-CLAUDE;
SINAY PIERRE; CHOAY JEAN; LORMEAU JEAN-
CLAUDE; NASSR MAHMOUD

Applicant: CHOAY SA




Classification:

- international: C07H3/06; C07H7/033; C07H9/04; C07H11/00;
C08B37/00; C07H3/00; C07H7/00; C07H9/00;
C07H11/00; C08B37/00; (IPC1-7): C07H3/04;
C07H5/04; C07H7/02; C07H9/04; C07H11/00;
C07H13/06; C07H15/04; C07H15/18- european: C07H3/06; C07H7/033; C07H9/04; C07H11/00;
C08B37/00P2G2

Application number: AU19830010397D 19830114

Priority number(s): FR19820000621 19820115; FR19820015804 19820920;
FR19820001575 19820201; FR19820002526 19820216;
FR19820009392 19820528; FR19820010891 19820622;
FR19820010892 19820622; FR19820011679 19820702;
FR19820013804 19820806; FR19820015803 19820920;
FR19820018303 19821028

Also published as:

 EP0084999 (A1)
 LU90928 (A9)
 AU563351C (C)

Report a data error here

Abstract not available for AU1039783

Abstract of corresponding document: EP0084999

1. A process for the organic synthesis of oligosaccharides comprising [D-glucosamine] - [D-glucuronic acid or L-iduronic acid] enchainments, or the reverse, such as encountered in heparin or heparan-sulfate, comprising : - using in a glycosylation reaction two compounds constituted or terminated respectively by A unit or D-glucosamine structure, and U unit of D-glucuronic acid or L-iduronic acid structure, one of the units A or U being an alcohol in which the -OH group of the alcohol function occupies position 4, the other unit having an activated anomeric carbon, substituted by a reactive group compatible with the other groups present on the units ; all the position of A and U excepted the one whose anomeric carbon is activated or the one occupied by the -OH group of the alcohol function, bearing either amino groups or carboxyl groups, or precursors of such groups, or again -OH groups, said groups occupying determined positions, the amino and carboxyl groups, when they are present, being respectively blocked by protective groups of amino and carboxyl functions, the -OH groups being blocked by at least two types of protective groups, sequentially removable while enabling the introduction of given groups at given positions, then the liberation of -OH groups to in other positions, - repeating, if desired, the glycosylation step to elongate the oligosaccharidic chain, - sequentially removing the protective groups of -OH groups by introducing desired substitution groups in specific positions, then making free the -OH groups in other specific positions as well as the amino and carboxyl groups, provided that the establishment of the interglycoside linkage does not lead to the obtention of a disaccharide with a [2-N-sulfate or (2-N-acetyl)-6-O-sulfate-D-glucosamine] - [methyl-D-glucuronic acid] structure.

Data supplied from the esp@cenet database - Worldwide

RÉPUBLIQUE FRANÇAISE
INSTITUT NATIONAL
DE LA PROPRIÉTÉ INDUSTRIELLE
PARIS

(11) N° de publication :
(A n'utiliser que pour les
commandes de reproduction).

2 521 566

A1

**DEMANDE
DE BREVET D'INVENTION**

(21)

N° 82 02526

(54) Nouveaux tétrasaccharides et leur préparation.

(51) Classification internationale (Int. Cl. 7). C 07 J 15/18.

(22) Date de dépôt..... 16 février 1982.

(33) (32) (31) Priorité revendiquée :

(41) Date de la mise à la disposition du
public de la demande..... B.O.P.I. — « Listes » n° 33 du 19-8-1983.

(71) Déposant : CHOAY SA, société anonyme. — FR.

(72) Invention de : Jean Choay, Jean-Claude Jacquinet, Maurice Petitou et Pierre Sinay.

(73) Titulaire : *idem* (71)

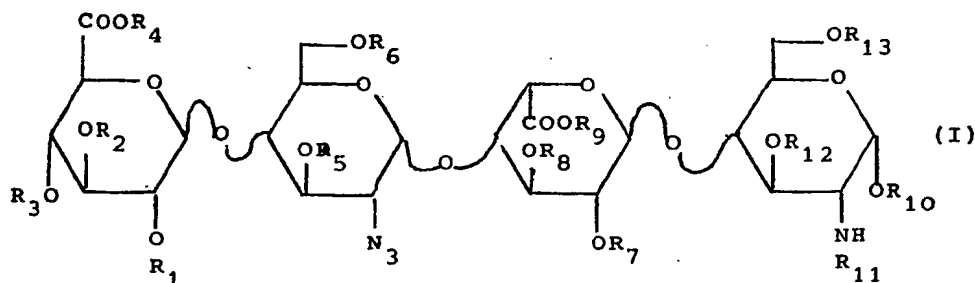
(74) Mandataire : Cabinet Plasseraud,
84, rue d'Amsterdam, 75009 Paris.

D

Vente des fascicules à l'IMPRIMERIE NATIONALE, 27, rue de la Convention — 75732 PARIS CEDEX 15

"Nouveaux tétrasaccharides et leur préparation"

L'invention a pour objet de nouveaux tétrasaccharides formés d'un enchaînement de motifs respectivement à structure [acide D-glucuronique]-[D-glucosamine]-[acide L-iduronique]-[D-glucosamine] de formule I :



dans laquelle

R_1 à R_{13} représentent des groupements protecteurs, le cas échéant différents, compatibles,

R_1 à R_3 , R_8 , R_{10} et R_{12} représentant plus particulièrement un groupe benzyle,

R_4 et R_9 , un groupe alcoyle, en particulier renfermant 1 à 3 atomes de carbone, de préférence un groupe méthyle,

R_5 à R_7 et R_{13} , un groupe acyle, en particulier un groupe acétyle, et

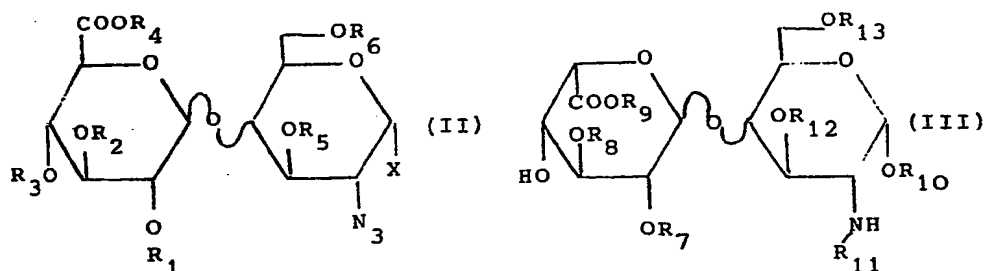
R_{11} un groupe benzyloxycarbonyle.

Des tétrasaccharides préférés répondent à la formule I ci-dessus dans laquelle R_1 à R_3 , R_8 , R_{10} et R_{12} représentent un groupe benzyle, R_4 et R_9 , un groupe méthyle et R_5 à R_7 et R_{13} un groupe acétyle.

L'invention vise également un procédé de préparation de ces tétrasaccharides.

Ce procédé comprend le couplage d'un disaccharide A à structure acide [D-glucuronique]-[D-glucosamine] avec un disaccharide B à structure [acide L-iduronique]-[D-glucosamine].

Ces disaccharides A et B répondent respectivement aux formules II et III suivantes



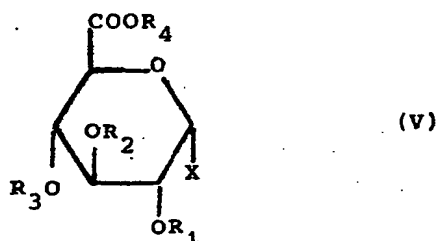
dans lesquelles les substituants R_1 à R_{13} présentent les significations données ci-dessus et X représente un groupe réactif en particulier un atome d'halogène de préférence du brome.

Pour préparer les tétrasaccharides préférés de l'invention, on met en oeuvre des disaccharides A et B de formule II et III dans lesquelles R_1 à R_3 , R_8 , R_{10} et R_{12} représentent un groupe benzyle, R_4 et R_9 , un groupe méthyle et R_5 à R_7 et R_{13} un groupe acétyle.

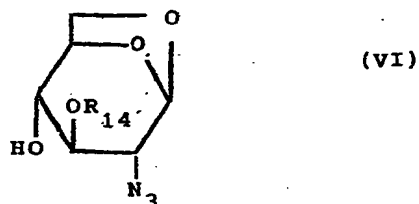
On observera que les disaccharides A et B mis en oeuvre sont des dérivés semi-ouverts, dans lesquels les différentes positions intervenant dans la réaction de glycosylation sont convenablement bloquées par des groupes protecteurs, le cas échéant différents, compatibles, ne réagissant pas dans les conditions de la réaction de glycosylation effectuée.

Ces disaccharides ne comportent alors chacun qu'un groupement réactif capable d'autoriser la réaction de glycosylation recherchée, ce groupement réactif se trouvant sur le carbone anomère en position 1 du motif glucosamine pour le dérivé A, et sur le carbone en position 4 du motif acide L-iduronique pour le dérivé B.

L'obtention d'un dérivé A comportant un tel groupe réactif est avantageusement réalisée par réaction d'un monosaccharide à structure acide D-glucuronique de formule V :



avec un monosaccharide à structure D-glucosamine de formule VI :



5 dans lesquels les substituants déjà évoqués présentent les significations données ci-dessus et R_{14} représente un groupement protecteur permettant l'introduction aisée de R_5 et plus spécialement un groupe benzoyle.

10 On remarquera l'intérêt d'utiliser le monosaccharide de formule V dans lequel les groupes -OH en positions 1 et 6 sont bloquées sous forme anhydro, ce qui permet de disposer durant la synthèse du disaccharide A d'un motif constituant potentiellement un motif ayant une structure D-glucosamine mais n'interférant pas
15 avec les réactions mises en jeu dans la synthèse. Selon un autre aspect, ce blocage par un groupe anhydro permet l'introduction sur les carbones en positions 1 et 6 des groupements préférés $-OCOCH_3$ par ouverture du pont anhydro et acétylation.

20 On dispose alors d'un disaccharide dans lequel les différents groupes -OH sont convenablement bloqués et le substituant sur le carbone anomère en position 1 peut être traité aux fins d'introduction du groupement réactif devant intervenir dans la réaction de glycosylation avec le dérivé B,
25

Pour la préparation de ce dérivé B, on a avantageusement recours au procédé de synthèse décrit dans la demande de brevet FR No 82 01575 déposée le 1er février 1982 au nom de la Demanderesse.

L'invention vise également, en tant qu'inter-médiaires, les produits nouveaux mis en oeuvre au cours du procédé de l'invention.

5 Les composés de l'invention présentent notamment un grand intérêt en tant qu'intermédiaires en synthèse osidique, plus spécialement pour la synthèse d'oligosaccharides constitutifs de l'héparine ou de l'héparanesulfate.

10 Ils permettent ainsi d'obtenir par voie de synthèse des oligosaccharides à activité anti-Xa (Yin-Wessler) supérieure à celle de l'héparine et à activité USP pratiquement négligeable. Les tests Yin-Wessler et USP sont rappelés notamment dans la demande de brevet FR 78 31357 du 6 novembre 1978 au nom de la
15 Demanderesse.

Les principales étapes et les produits inter-médiaires obtenus, qui font donc également partie de l'invention sont illustrés dans les figures 1 et 2. Les formules chimiques des composés de départ, des composés intermédiaires successivement obtenus et des
20 composés finaux, données dans ces figures portent des références numériques, également utilisées pour désigner les mêmes produits dans la description.

Les abréviations utilisées dans ces formules ont les significations suivantes : Ac : un groupe acé-
25 tyle ; Me : méthyle ; Bn : benzyle ; Bz : benzoyle.

E X E M P L E

SYNTHESE DU DERIVE 4 :

30 Le produit 2 (1g), en solution dans du dichlorométhane (50 ml), est agité en présence de drierite (6g) et de carbonate d'argent fraîchement préparé (4,5g), pendant 1 heure sous une atmosphère d'argon. On ajoute alors l'halogénure 1 (2,8g) dissous dans du dichlorométhane (10 ml). Après 1 heure 1/2 on ajoute à nouveau
35 2,8g d'halogénure 1. Après une nuit les solides sont

éliminés par filtration et le résidu obtenu après évaporation des solvants est purifié sur colonne de silice dans le solvant acétate d'éthyle/chloroforme (1/30 ; v/v).

5 On obtient ainsi le produit 4 (866 mg ; rendement 42 %). Il est cristallisé dans un mélange hexane/acétate d'éthyle.

P.F. : 104-106°C ; $[\alpha]_D^{20} = 0^\circ$ (c=1 ; chloroforme).

10 L'analyse élémentaire et le spectre RMN sont conformes à la structure recherchée.

SYNTHESE du DERIVE 6 :

15 Le dérivé 4, (1,5g) est dissous dans un mélange de chloroforme et de méthanol (1/1 ; v/v). On ajoute ensuite 2 ml de méthanolate de sodium (2M dans méthanol). Après 20 minutes, la solution est neutralisée par addition de résine Dowex 50 conduisant au dérivé 5 qui n'est pas isolé. Après filtration et évaporation, une méthylation classique par le diazométhane dans l'éther permet de réestérifier la fraction d'acide carboxylique éventuellement libéré. Après évaporation le résidu est traité par un mélange de pyridine (20 ml) et d'anhydride acétique (2ml) pendant une nuit. Après évaporation, le résidu est cristallisé dans de l'acétate d'éthyle/hexane donnant le produit 6 (1,125g ; rendement 81,6%).

20 P.F. : 103-105°C ; $[\alpha]_D^{20} = +5,2^\circ$ (c = 1 ; chloroforme).

30 L'analyse élémentaire et le spectre RMN sont conformes à la structure recherchée.

En variante, on prépare le dérivé 6 en opérant comme décrit ci-dessus mais en mettant en oeuvre le dérivé 3 au lieu du dérivé 2.

SYNTHESE du DERIVE 7 :

35 Le composé 6 (1g) est dissous dans l'anhydride acétique (10ml) puis refroidi à -20°C sous

argon. A la solution froide, on ajoute de
l'acide sulfurique concentré (100 μ l). Après 30 minutes,
le mélange réactionnel est dilué par du chloroforme
(150 ml) puis versé sur une solution aqueuse de bicar-
bonate de sodium (26,5 g dans 400 ml). A la fin du
dégagement gazeux la phase chloroformique est lavée
deux fois avec une solution saturée de NaCl puis séchée
et concentrée. Après chromatographie sur silice (50 g)
dans un mélange d'acétate d'éthyle et de chloroforme
1/20 v/v, on obtient le composé 7 (995 mg ; rendement
86,7%).

Ce composé se présente sous forme d'une
mousse blanche.

Le spectre et l'analyse élémentaire confirment
l'obtention de la structure recherchée.

SYNTHESE du DERIVE 8 :

A du tétrabromure de titane (213 mg) on
ajoute une solution du dérivé 7 (0,2g) dans du dichlo-
rométhane/acétate d'éthyle (9/1 ; v/v .4 ml). Après une
nuit sous agitation suivie d'une dilution par du dichlo-
rométhane, on verse sur un mélange eau glace (50 ml), puis
on lave avec deux fois 50 ml d'eau glacée. Après
séchage et évaporation le sirop obtenu est chromato-
graphié sur silice dans le solvant acétate d'éthyle/chlo-
roforme 1/20 ; v/v. On obtient ainsi le dérivé 8 avec
un rendement de 25 à 50%.

Spectre de RMN : (ppm, CDCl_3) : 2,04 ; 2,11 :
2 singulets de 3 protons 2-OAc ; 3,7 : 1
singulet de 3 protons COOMe ; 6,33 : 1 doublet
de 1 proton H_1 ; $J_{1,2} = 3,5$ Hz.

SYNTHESE du DERIVE 10 :

Une solution de bromure 8 (50 mg, 60 μ M) et de
l'alcool 9 (43 mg, 50 μ M) dans du dichlorométhane
anhydre (1ml) est agitée à l'abri de la lumière sous
atmosphère d'argon sec en présence de tamis moléculaire

4 Å (poudre, 100 mg) pendant 15 minutes. Après refroidissement à -10°C , de la sym-collidine (11 μl , 80 μM) et du trifluorométhanesulfonate d'argent (triflate d'Ag, 18 mg, 70 μM) sont ajoutées successivement, et l'agitation est maintenue dans ces conditions pendant 3 heures. Le mélange réactionnel est alors dilué avec du dichlorométhane (30 ml), les solides sont essorés, et le filtrat est lavé avec une solution 0,1 M d'acide chlorhydrique glacée, avec de l'eau, avec une solution aqueuse saturée d'hydrogénocarbonate de sodium, avec de l'eau, séché (sulfate de sodium), filtré et évaporé.

Le résidu est chromatographié sur une colonne de gel de silice (7 g). L'élution par le mélange hexane-acétate d'éthyle (4 : 3, v/v) donne 56 mg de tétrasaccharide 10 (rendement 70%) sous forme d'un verre incolore qu'il n'a pas été possible de cristalliser.

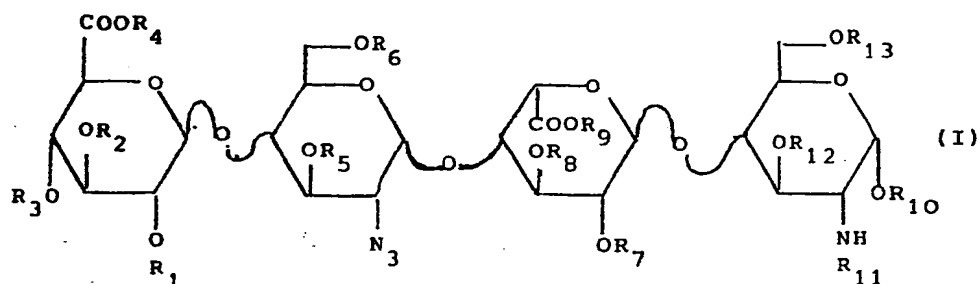
Caractéristiques du spectre RMN:

(270 MHz , CDCl_3) : S : 7,25 (m, 35 H, 7 Ph) ;
 5,35 (d.ded., 1 H, H_3'' , $J_{2''',3''} = \text{H}_2'$, $J_{3''',4''} = 9 \text{ Hz}$) ;
 20 5,27 (d., 1H, H_1'' , $J_{1'',2''} = 3.5 \text{ Hz}$) ; 4.31 (d., 1H, H_1'' , $J_{1'',2''} = 7,5 \text{ Hz}$) ;
 3,68 (s, 3H, COOMe IDO) ; 3,59 (s, 3H, COOMe gluco) ;
 3,37 (d.de d., 1H, H_2'' , $J_{2'',1''} = 7,5 \text{ Hz}$, $J_{2'',3''} = 9.5 \text{ Hz}$) ;
 3,18 (d.de d., 1H, H_2'' , $J_{2'',1''} = 3,5 \text{ Hz}$, $J_{2'',3''} = 11 \text{ Hz}$) ;
 25 2,06 et 1,97 (2s, 9 et 3 H, 4 OAc).

Ce spectre est reporté sur la figure 3.

REVENDICATIONS

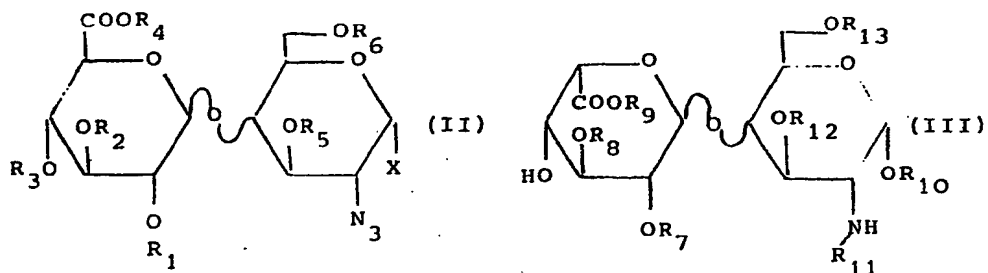
1. Tétrасaccharides, caractérisés en ce qu'ils sont formés d'un enchaînement de motifs à structure
 Acide D-glucuronique- β -D-glucosamine-Acide L-iduronique-
 5 β -glucosamine, de formule I



dans laquelle :

- R₁ à R₁₃ représentent des groupements protecteurs, le cas échéant, différents, compatibles,
- R₁ à R₃, R₈, R₁₀ et R₁₂ représentent plus particulièrement un groupe benzyle,
- R₄ et R₉, un groupe alcoyle, en particulier renfermant 1 à 3 atomes de carbone, de préférence un groupe méthyle.
- R₅ à R₇ et R₁₃, un groupe acyle, en particulier un groupe acétyle, et
- R₁₁, un groupe benzyloxycarbonyle.

2. Procédé de préparation de tétrasaccharides selon la revendication 1, caractérisé en ce qu'il comporte la réaction du disaccharide A avec le disaccharide B, de formules II et III respectives :



dans lesquelles les substituants R_1 à R_{13} présentent les significations données ci-dessus et X représente un groupe réactif en particulier un atome d'halogène, de préférence du brome, dans des conditions permettant leur couplage.

FIGURE 1

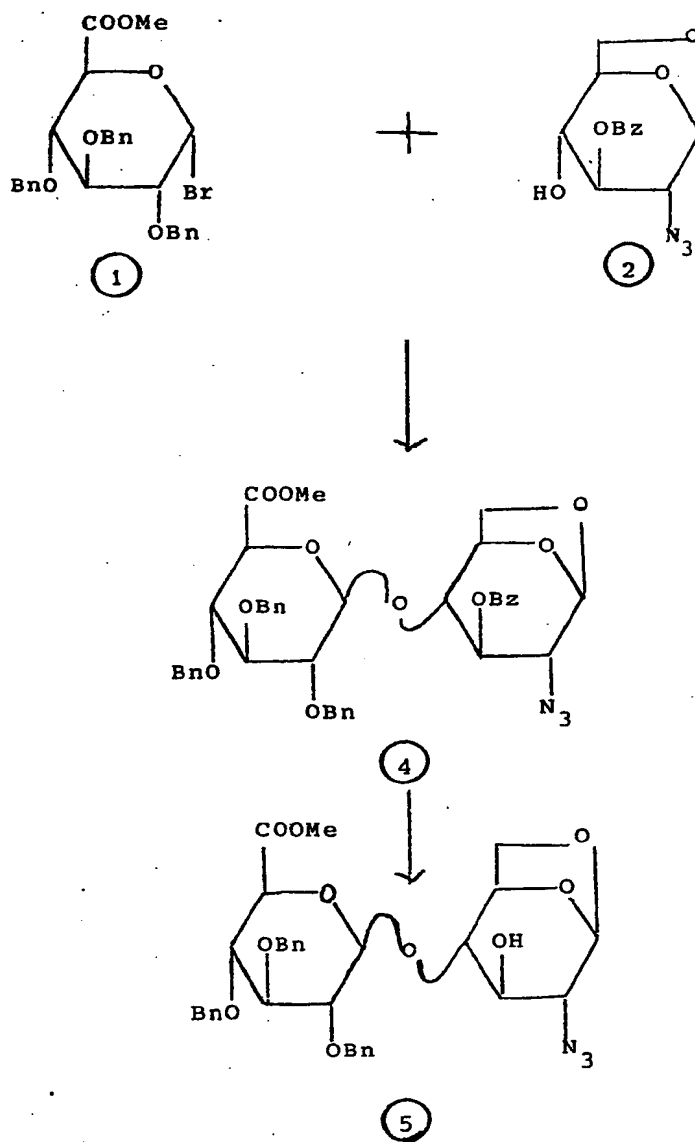


FIGURE 2

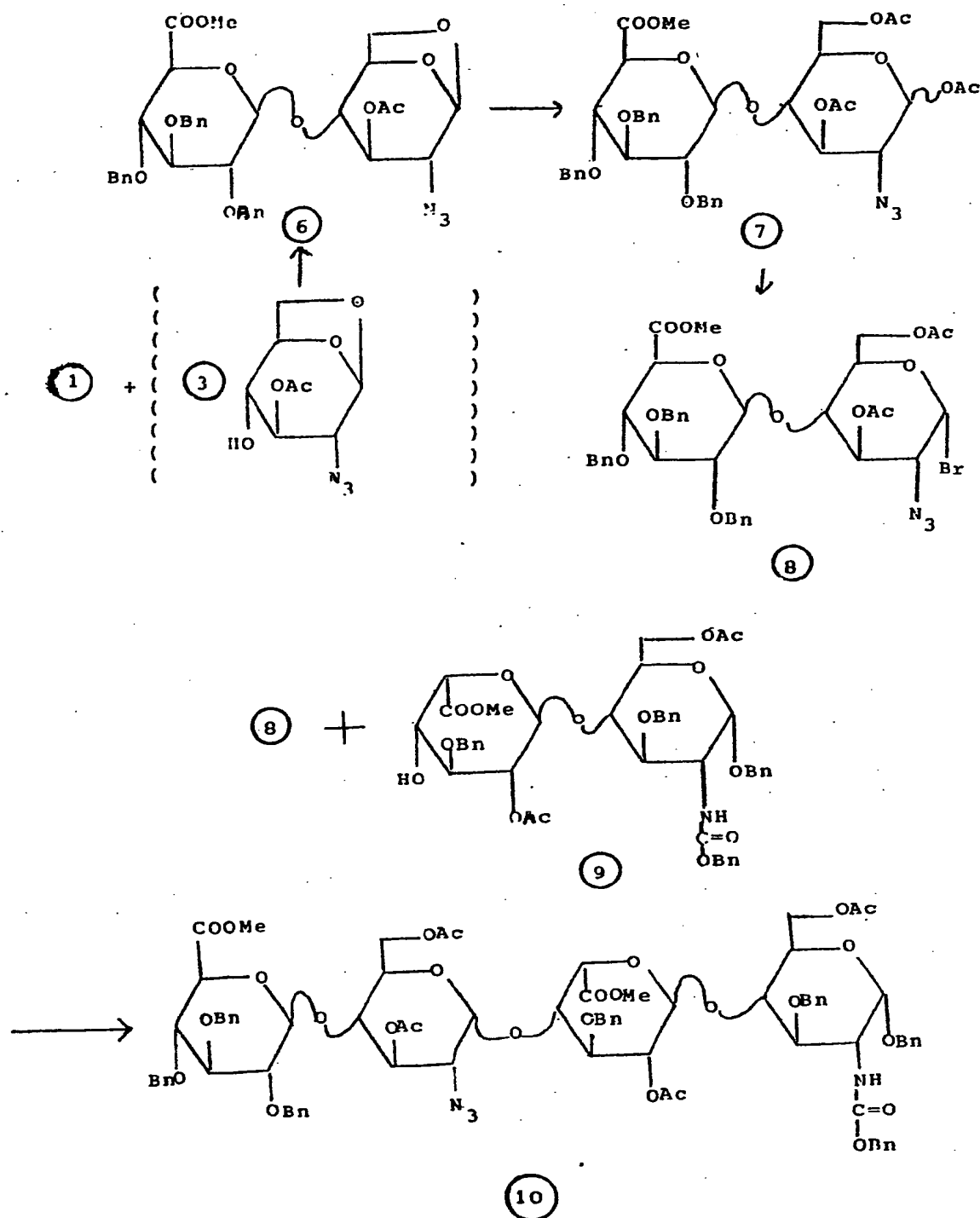


PLANCHE III/3

252156

